P-427

造精機能障害とアポトーシス

神戸大学

藤澤正人、神崎正徳、岡田弘、荒川創一、守殿貞夫

【目的】精巣機能は、主に間脳一下垂体-精巣系によって調節されているが、精巣局所における精細胞分化の調節機構も近年重要視されるようになった。アポトーシスは精巣での精細胞の分化にかかわり、精子形成に重要な役割のあることが示唆されている。今回、我々は、ヒト精巣におけるアポトーシスをTUNEL法を用いて解析し、精子形成における意義について検討した。

【対象と方法】不妊を主訴とした精索静脈瘤患者28名に対して左内精静脈高位結紮術の際に精巣生検を行ない、精巣のアポトーシスについて検討した。アポトーシスは、精巣生検組織をformalin固定し、パラフィン包埋後、5umの切片を作成しTUNEL法にてin situ endolabelingをおこなった。発色は、DABにて行ない、methylgreenにて対比染色した。20精細管以上についてアポトーシスを起こした細胞、すなわちlabelされた細胞をCAS 200 image analyzerにて測定し、全精細胞数に対するlabelされた細胞数の比率(%)をApoptotic Index (AI)とした。正常コントロールとして精管結紮術の際に同意の得られた5例(5検体)の精巣生検材料を用いた。また、Fas-Fas ligandを介したアポトーシスの関与についても検討した。

【結果】精索静脈瘤患者精巣のAIは、右側で $3.90 \pm 2.28\%$ 、左側で $3.78 \pm 2.87\%$ 、正常精巣のAIは $9.67 \pm 0.93\%$ であった。精索静脈瘤患者の左右精巣のAIは、正常に比べて両側とも同程度に有意に低下しており($P < 0.05$)、アポトーシスが抑制されていた。AIは、LHと負の相関を示す傾向がみられたが、FSH、testosterone、estradiolとは相関しなかった。また、AIは、精索静脈瘤のgrade、精子濃度、Johnsen's mean scoreとも関連がなかった。

【考察】精索静脈瘤患者精巣でのアポトーシスは、正常精巣に比べて明らかに抑制されていた。このようなアポトーシスの抑制は、造精機能障害をきたした精巣において精子形成に必要な精細胞数を維持するための重要な調節機構であると考えられた。

P-428

実験的停留精巣におけるFas抗原の発現

愛媛大学

尾木伸輔、丹司 望、Shah Atiqur Rahman、横山雅好、竹内正文

【目的】ラットを用いた実験的停留精巣で、apoptosisにより生殖細胞が減少し、精巣が萎縮することが知られている。しかしながら、その機序についてはあまり知られていない。今回、マウスを用いた実験的停留精巣を作成し、精巣障害とapoptosisの関与、ならびにその機序について検討した。

【方法】出生後40日目の雄マウスの片側精巣を腹腔内に固定することにより、実験的停留精巣を作成した。評価は、停留精巣群と対照側群に対し、それぞれ精巣重量の比較、組織学的検討(HE染色、In situ nick end labeling法)、電顕、アガロースゲルを用いたDNA fragmentationの検討を行った。さらに、FACscanを用いて、細胞周期の解析、ならびにFAS抗原、Bcl-2蛋白の発現変化について検討を行った。

【結果】精巣重量は、停留精巣作成後4日目頃より減少傾向がみられた。一方、組織学的検討では、停留精巣作成後1日目よりapoptosisが観察され、作成後徐々に増加した。電顕による検討においても、生殖細胞のapoptosisが確認され、DNA fragmentationの検討で、停留精巣群にladder patternが検出された。FACscanを用いた検討では、apoptosis期の細胞が増加しており、さらにapoptosis期の細胞の増加にともなって、Bcl-2蛋白の発現の増加はみられなかったが、FAS抗原の発現の増加がみられた。

【まとめ】今回の検討により、実験的マウス停留精巣でも生殖細胞数の減少と精巣重量の低下が観察され、その原因がapoptosisによることが示唆された。また、そのapoptosisは、FAS抗原の発現を介することが予想された。